·论　著·

硫酸钙/骨基质明胶在修复兔尺骨骨缺损中的实验研究*

孙翊夫[1]，夏　鹏[1△]，叶开其[2]，陈　健[3]（1. 吉林大学中日联谊医院骨科，吉林长春　130033；2. 吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室，吉林长春　130012；3. 吉林大学动物实验中心，吉林长春　130062）

【摘要】　目的　探讨硫酸钙/骨基质明胶可降解复合人工材料用于兔尺骨骨缺损的修复效果。**方法**　选取已建立尺骨缺损模型家兔 30 只，采用随机数字表法将其分为 3 组，即空白对照组、单纯硫酸钙组及硫酸钙/骨基质明胶组，比较 3 组家兔术后 12 周骨痂形成率、骨性修复率及双轨征出现率、骨缺损修复 X 线片评分、尺骨扭转强度等。**结果**　硫酸钙/骨基质明胶组骨痂形成率为 93.33%、骨性修复率为 86.67%、双轨征出现率为 93.33%、骨缺损修复 X 线片评分(11.85±2.14)分、尺桡骨扭转强度(0.87±0.13)N×M，5 项均明显高于单纯硫酸钙组和空白对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　硫酸钙/骨基质明胶可降解复合人工材料，用于兔尺骨骨缺损修复效果显著，可有效促进骨痂形成及骨结构修复。

【关键词】　硫酸钙/骨基质明胶；　可降解复合人工材料；　骨缺损；　修复

DOI：10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.011　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9455(2013)23-3110-02

Experimental study on CS/BMG biodegradable composite artificial materials in repairing bone defects of rabbit ulna*

SUN Yi-fu[1], *XIA Peng*[1△], *YE Kai-qi*[2], *CHEN Jian*[3] (1. *Department of Orthopedics, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin* 130033, *China*; 2. *State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials of Jilin University, Changchun, Jilin* 130012, *China*; 3. *Department of Laboratory Animal Center, Jilin University, Changchun, Jilin* 130062, *China*)

【Abstract】　Objective　To explore the reparative effect of CS/BMG biodegradable artificial material on the defect of rabbit ulna bone. **Methods**　Thirty rabbits on which ulna defect model had been established were selected, divided into three groups that normal control group, pure CS treatment group and CS/BMG group by using the random number table method, then compared these datas that bone callus formation rate, bony rate, rate of dual track appeared, bone defect repair X-ray score, ulna torsional stresses among three groups in the following 12 weeks. **Results**　CS/BMG group bony callus formation rate, estoration rate, the double-track sign rate , bone defect repair X-ray score, ulna torsional stresses were 93.3%, 86.7%, 93.3%, (11.85±2.14), (0.87±0.13)N×M, which were higher than the pure CS group and blank control group ($P<0.05$). **Conclusion**　The reparative effect of CS/BMG biodegradable artificial material on the defect of rabbit ulna bone is remarkable.

【Key words】　CS/BMG;　biodegradable artificial materials;　bone defects;　repair

骨缺损作为矫形外科常见损伤之一，常继发于严重创伤、术后感染及某些先天疾病等[1]。骨缺损患者尤其是四肢长骨干较大的缺损，需要修复才能恢复患者肢体功能[2]。目前临床常用的骨填充材料有自体骨、同种异体骨及人工骨。自体松质骨被认为是移植的“金标准”，但来源受限，取骨区容易出现并发症，对于骨质条件较差的老年人，移植效果不佳[3-4]。异体骨价格较贵，不具有塑形性，应用也受到了限制。本研究拟探讨硫酸钙/骨基质明胶(CS/BMG)对于家兔急性骨缺损的短期疗效，现报道如下。

1　材料与方法

1.1　一般资料　本次研究 45 只家兔由吉林大学动物实验中心提供，均为健康成年家兔，体质量(2.5±0.6)kg；随机分为 3 组，即空白对照组、单纯 CS 组及 CS/BMG 组，每组各 15 只；3 组家兔性别、体质量及周龄等一般资料比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。

1.2　仪器与试剂　α 半水 CS 由吉林大学第三医院口腔科提供；BMG 参照陈建明等[5]的方法，取兔新鲜四肢长骨干，粉碎至 30～80 目骨粒。给予 1∶1 氯仿甲醇溶液脱脂，盐酸(0.6 mmol/L)脱钙；后经反复洗涤除酸，再次给予 1∶1 氯仿甲醇溶液脱脂，并分别给予氯化钙(2 mmol/L)、乙二胺四乙酸(0.5 mol/L)、氯化锂(8 mmol/L)处理，置入 55 ℃水浴 24 h，冷冻备用；CS/BMG 复合材料按 2∶1 的比例将上述制备好的 CS 和 BMG 混匀，按 1.0∶0.5 固液比加入蒸馏水，搅拌调至糊状，放入自制模具，待干燥后打磨，预制成长 15 mm、直径 5 mm 人工骨，环氧乙烷消毒备用。

1.3　方法　家兔行静脉麻醉后仰卧位，前肢脱毛，做前臂后外侧切口暴露尺骨，纵行切开骨膜，摆锯在长骨中段截取 1.5 cm 尺骨；分别植入单纯 CS、CS/BMG 复合材料、缺损区旷置，缝合骨膜后观察。

1.4　观察指标

1.4.1　观察术后 12 周家兔骨痂形成、骨性修复、双轨征出现情况。骨痂形成及骨性修复观察使用 X 线摄片；双轨征观察采用四环素荧光示踪，即于动物处死前 1 周静脉注射盐酸四环素 50 mg/kg，浓度为 3%；之后常规取材脱水，包埋剂使用甲基丙烯酸甲酯，切片后荧光显微镜观察。

1.4.2　观察术后 12 周植入组织与宿主骨结合、骨缺损修复程

*　**基金项目：**吉林省产业技术研究与开发项目(3J112P553430)。　△　**通讯作者，**E-mail：clonexp@hotmail.com。

度采用 Lane-Sandhu 评分标准,对术后 12 周 X 线片影像学进行综合评分。

1.4.3 抗弯曲负荷测试　采用 IN STRO 134 万能材料试验机,取植入材料约 2.5 cm 进行抗弯曲负荷测试。

1.5 统计学方法　采用 SPSS15.0 进行统计学处理,计量资料用 $\overline{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验,计数资料用样本数(n)或率(%)表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　　果

2.1 3 组术后 12 周骨痂形成、骨性修复、双轨征比较　见表 1。CS/BMG 组家兔术后 12 周骨痂形成率、骨性修复率、双轨征出现率明显高于空白对照组和单纯 CS 组,单纯 CS 组骨痂形成率、骨性修复率、双轨征出现率明显高于空白对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1　3 组术后 12 周 3 项比较[n(%),$n=15$]

组别	骨痂形成	骨性修复	双轨征
空白对照组	8(53.33)	7(46.67)	8(53.33)
单纯 CS 组	11(73.33)	10(66.67)	10(66.67)
CS/BMG 组	14(93.33)	13(86.67)	14(93.33)

2.2 3 组术后 12 周骨缺损修复 X 线评分　3 组术后 X 线评分分别是:空白对照组(9.20±1.44)分,单纯 CS 组(10.12±1.65)分,CS/BMG 组(11.85±2.14)分。CS/BMG 组 12 周骨缺损修复 X 线评分明显高于单纯 CS 组和空白对照组;单纯 CS 组评分明显高于空白对照组。

2.3 生物力学测试结果　3 组术后 12 周尺桡骨扭转强度分别是:空白对照组(0.01±0.42)N×M,单纯 CS 组(0.35±0.05)N×M,CS/BMG 组(0.87±0.13)N×M。术后 12 周 CS/BMG 组尺桡骨扭转强度与自体松质骨(0.89±0.18)N×M 非常接近,差异无统计学意义($P>0.05$),明显高于单纯 CS 组与空白对照组;单纯 CS 组扭转强度明显高于空白对照组。

3 讨　　论

骨缺损修复关键在于骨移植材料选择应符合以下标准:(1)形成新骨诱导空间;(2)可同步降解吸收,且对于骨组织修复具有促进作用,临床传统采用硫酸钙进行骨组织修复。动物及细胞试验均证实,其一方面可有效与组织相容,促进成骨细胞及破骨细胞能力;另一方面不引起周围炎症细胞聚集和纤维组织包裹[6-7]。但是临床研究亦证实,硫酸钙诱导骨质增生能力不佳,无法满足临床需要[8]。本文研究数据表明,单纯 CS 组骨痂形成、骨性修复、双轨征、骨缺损修复 X 线评分、抗弯曲能力均明显低于 CS/BMG 组。因此,在硫酸钙进行骨缺损修复的基础上添加一种成骨活性诱导剂以提高临床治疗效果就成为人们的关注重点[9]。

BMG 作为一种近年来得到应用的天然生物材料,通过化学方法去除骨质非胶原性蛋白,仅保留成骨蛋白成分,即显著降低材料抗原性,保留诱导成骨能力。已有研究显示,BMG 相较于传统骨缺损修复材料,在植入人体之后不出现免疫反应,且通过自身具有的骨形态诱导蛋白可有效诱导骨质形成[10-11];而 BMG 诱导骨质形成能力优于骨基质已经被证实,部分学者认为其成骨能力与自体骨移植相当[12]。本研究中,CS/BMG 组术后 12 周尺桡骨扭转强度与自体松质骨扭转强度分别为(0.87±0.13)、(0.89±0.18)N×M,差异无统计学意义,与部分学者的观点完全一致。此外,BMG 诱导形成骨质结构松散,有利于血管及细胞生长形成。BMG 可在缺损处形成三维支架,有利于新骨稳定生长,而其对于缺损周边间充质细胞分化增殖的促进作用,亦可增强骨缺损修复能力。

目前尚无十分有效的方式来监测植入细胞的体内活动,一般均通过影像学、组织学、生物力学的方式来检测骨形成状况。本研究结果显示,CS/BMG 组在植入兔尺骨缺损处 4 周后即可见缺损区骨质明显形成,出现时间及骨质生成量优于单纯 CS 组,至 12 周即完成骨性修复。同时 CS/BMG 植入缺损处之后未发现明显排斥反应。CS/BGM 组家兔术后 12 周骨痂形成率、骨性修复率、双轨征出现率均明显高于空白对照组和单纯 CS 组,其骨缺损修复 X 线评分及尺桡骨扭转强度也明显高于单纯 CS 组与空白对照组。

综上所述,CS/BMG 可降解复合人工材料,用于兔尺骨骨缺损修复效果显著,可有效促进骨痂形成和骨结构修复,同时材料来源广泛,制作方便,完全可满足骨移植替代材料的要求。

参考文献

[1] Joosten U,Joist A,Goshenger G,et al. Effectiveness of hydroxyapatite-vancomycin bone cement in the treatment of Staphylececcus aureus induced chronic osteomyelitis[J]. Biomaterials,2005,26(25):5251-5258.

[2] 张建新,徐展望,常峰. 组织工程化人工骨修复骨缺损的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志,2009,17(16):1258-1260.

[3] 丁真奇,石玲玲,康两期,等. 异种脱蛋白管移植修复大段骨缺损的力学评估[J]. 临床骨科杂志,2010,13(2):200-203.

[4] 苏荣玉. 硫酸钙人工骨修复骨缺损的研究进展[J]. 医学综述,2011,17(2):247-248.

[5] 陈建明,刘方刚,金大地. 硫酸钙/骨基质明胶复合人工骨修复骨缺损[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(45):8948-8952.

[6] Gardiner A,Weitzel PP. Bone Graft Substitutes in Sports Medicine[J]. Sports Med Arthrosc,2007,15(3):158-166.

[7] Schwartz Z,Hyzy SL,Moore MA,et al. Osteoinductivity of demineralized bone matrix is independent of donor bisphosphonate use[J]. J Bone Joint Am,2011,21(24):2278-2286.

[8] 金涛,顾洁夫,蔡林,等. 异种骨复合物修复兔桡骨缺损的实验研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(14):4116-4121.

[9] 胡庆柳. 仿松质骨生物活性人工骨修复兔尺骨大段缺损的动态实验研究[J]. 临床医学工程,2010,12(7):5-8.

[10] Nadeem D,Kiamehr M,Yang X,et al. Fabrication and in vitro evaluation of a sponge-like bioactive-glass/gelatin composite scaffold for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,2013,33(5):2669-2678.

[11] Chen M,Wang X,Ye Z,et al. A modular approach to the engineering of a centimeter-sized bone tissue construct with human amniotic mesenchymal stem cells-laden microcarriers[J]. Biomaterials,2011,32(30):7532-7542.

[12] 简月奎,罗阳,田晓滨,等. 改良法制备异种脱蛋白骨体内植入修复骨缺损的免疫学分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(42):7802-7806.

(收稿日期:2013-06-21　修回日期:2013-08-06)